ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA
VOL. VII, 12. SECTIO D 1952

Z Zakładu Histologii i Embriologii Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: prof. kontr. doc. dr med. Stanisław Grzycki

Józef STASZYC

Cytomorfologiczne i cytochemiczne badania nad rozmieszczeniem kwasu askorbinowego w nadnerczu pod wpływem wyciągów tylnego płata przysadki mózgowej

Цитоморфологические и цитохимические исследования по размещению аскорбиновой кислоты в надпочечнике под влиянием экстрактов задней дольки гипофиза

Cytomorphological and Cytochemical Studies on the Distribution of the Ascorbic Acid in the Adrenals under the Influence of the Posterior Pituitary Extracts

Zagadnienie

Witamin „C"' (kwas askorbinowy) jako dodatkowy składnik pożywienia pod względem struktury chemicznej został szczegółowo zbadany. Wykrycie tego kwasu w korze nadnerczy przez Szent Gyorgy (1928) i stwierdzenie, że występuje on w tym narządzie szczególnie w dużej ilości zwróciło uwagę licznych badaczy (Bessessen 1923, Mouriquand, Tete, Lavaud 1938, Quick 1933, oraz Harris i Ray 1947) na istnienie współzależności pomiędzy kwasem askorbinowym, a czynnością kory nadnerczy. Stepto, Pirani, Consolazio i Bell (1951) badali szczegółowo zachowanie się kwasu askorbinowego i cholesterolu w nadnerczach świnek morskich, które przez dłuższy czas otrzymywały dietę bezwitaminową. Przekonali się oni, że ilość kwasu askorbinowego i cholesterolu w korze nad-

nerczy zależna jest od produkcji steroidów, oraz że ubytek kwasu askorbinowego i cholesterolu jest współzależny od ubytków steroidów w korze nadnerczy.

Sayers G., Sayers M. A., Liang i Long (1946) oraz Sayers G. i M. A. (1947) doszli również do podobnych wyników po zastosowaniu A. C. T. H.

Tonutti (1937) i inni badali rozmieszczenie witaminu C w komórkach, zaś Michałowski (1936) w różnych narządach, stwierdzając między innymi, że w warstwie kłębkowatej kory nadnerczy kwas askorbinowy nie występuje i z tego też powodu Mullon uważał ją za część rezerwową kory.

Nie znaleźliśmy prac, które omawiałyby wpływ wyciągów tylnego płata przysadki mózgowej na ilość i rozmieszczenie kwasu askorbinowego w korze nadnerczy. Zagadnieniem tym zajęliśmy się, ponieważ jak wykazały nasze poprzednie badania (Staszyc 1952), istnieje wyraźny wpływ wyciągów tylnego płata przysadki mózgowej na dynamikę przemian w komórkach nadnerczy.

Wpływ ten wyrażał się hipoplazją i hipofunkcją w układzie mitochondrialnym i aparacie Golgiego.

Materiał doświadczalny i metodyka badań

Myszkom białym (samcom jednorocznym) wagi około 25 g wstrzykiwano 1, 2, 3, 4, i 5 razy podskórnie w ilości 0,5 ml w odstępach 30 minutowych mianowane wyciągi tylnego płata przysadki mózgowej (Pituitrol P. Z. H. Warszawa. Jeden ml Pituitrolu P. Z. H. odpowiadał dziesięciu jednostkom Voegtlina).

W godzinę po ostatnim zastrzyku pobrano materiał w ciemni przy czerwonym świetle i nie utrwalone nadnercza umieszczono w 10% azotanie srebrowym z dodatkiem kwasu octowego lodowatego, postępując w dalszym ciągu ściśle wg metody Giroud i Leblonda. Skrawki mikrotomowe podbarwiono safraniną. Nadnercza do badań kontrolnych utrwalono w płynach Carnoya, Regaud, alkohol-formolu i formolu obojętnym 1:9. Aparat siateczkowy Golgiego wyczerniono wg uranowo-srebrowej metody Cajala, zaś ziarenka chondriomu wg metody Regauda.

Równolegle z tymi doświadczeniami wstrzykiwano drugiej grupie myszek płyn fizjologiczny w tych samych ilościach i odstępach czasu. Kwas askorbinowy, aparat Golgiego i chondriom wykazano również wg stosowanych metod.

Badania własne

W nadnerczach myszek kontrolnych kwas askorbinowy wyczerniony wg metody Giroud i Leblonda miał wygląd licznych, czarnych, drobnych ziarenek rozsypanych równomiernie po cytoplazmie komórek kory nadnercza. W komórkach grupowały się one przeważnie w strefie przyjądrowej. Można było także obserwować nieliczne ziarenka pozakomórkowo, a mianowicie w przegrodach łącznotkankowych rozdzielających pasma komórkowe.

W komórkach części rdzennej nadnerczy znajdujących się w bezpośredniej bliskości kory wyczerniły się również tu i ówdzie ziarenka witaminu C w mniejszej jednak ilości w porównaniu z komórkami korowymi. Umiejscowienie ziarenek tych w komórkach było raczej obwodowe i to przeważnie przy tych ścianach, które graniczyły z naczyniami krwionośnymi.

I. grupa doświadczalna

Podanie 0,5 ml wyciągu tylnego płata przysadki mózgowej nie spowodowało wyraźnych zmian w obrazie cytologicznym i histologicznym nadnerczy w porównaniu z preparatami kontrolnymi. Na niektórych tylko preparatach zauważyliśmy zagęszczenie ziarenek kwasu askorbinowego w komórkach na pograniczu warstwy korowej z rdzenną. Miały one wygląd dużych ziaren dzięki zlepieniu się większej lub mniejszej ilości mniejszych.

Niewystępowanie podobnych obrazów we wszystkich preparatach z tej serii nie upoważnia nas do uważania ich za charakterystyczne dla tej grupy doświadczalnej. Podbarwienie preparatów safraniną, hematoksyliną i eozyną nie wykazało zmian cytomorfologicznych w warstwach kory i istoty rdzennej nadnerczy.

II. grupa doświadczalna

Wstrzyknięcie 1,0 ml wyciągu tylnego płata przysadki mózgowej dało obrazy bardzo charakterystyczne dla tej grupy doświadczalnej.



Mikrofotografia Nr 1. Nadnercze myszy. 1 ml. Pituitrolu P. Z. H. II grupa doświadczalna. Liczne ziarenka kwasu askorbinowego w warstwach pasmowatej i siatkowatej. Metoda Giroud i Leblonda. Pow. małe.



Mikrofotografia Nr. 2. Nadnercze myszy. 1 ml. Pituitrolu P. Z. H. II grupa doświadczalna. Warstwy pasmowata i siatkowata. Duże ziarenka kwasu askorbinowego śródkomórkowo i pozakomórkowo, wyczernione wg metody Giroud i Leblonda. Pow. duże.

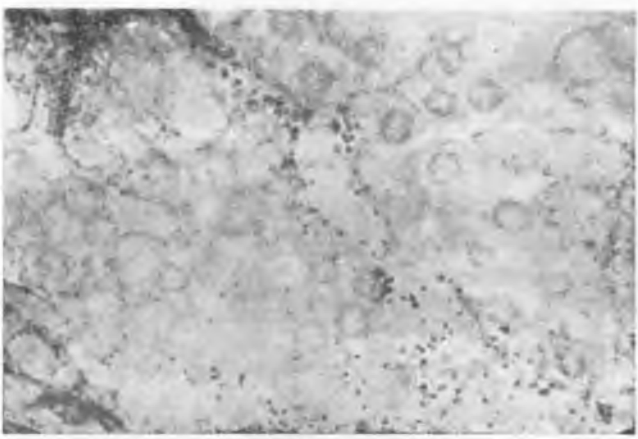
Wyrażały się one zmniejszeniem ilości ziarenek w komórkach warstwy kłębowatej i wyraźnym zwiększeniem ich w pasmowatej, a przede wszystkim w siatkowatej, oraz w przykorowych komórkach rdzennych. (Mikrofotografia Nr 1).

Ziarenka kwasu askorbinowego wyczernione azotanem srebra wg metody Giroud i Leblonda występowały śródkomórkowo i pozakomórkowo, przy czym zauważyliśmy łączenie się drobnych ziarenek w większe. (Mikrofotografia Nr 2).

Cytomorfologiczne zmiany dotyczyły również aparatu Golgiego i chondriomu. Brak systemów sferoidalnych przedstawiał początkowy okres hipoplazji aparatu Golgiego, w którym zanika zdolność różnicowania się ciałek sferoidalnych, a tym samym rytm pracy ulega zahamowaniu. Chondriom natomiast umiejscowiony był raczej na obwodzie komórki i to zwykle w niewielkiej odległości od jej ektoplazmatycznej błony.

III. grupa doświadczalna

Zanik ziarenek kwasu askorbinowego w komórkach warstwy kłębkowatej kory, zmniejszenie ich ilości w siatkowatej przy równoczesnym nagromadzeniu w warstwie pasmowatej były charakterystyczne dla nadnerczy myszek, które otrzymały po 1,5 ml wyciągu tylnego płata przysadki mózgowej.



Mikrofotografia Nr 3. Nadnercze myszy. 1,5 ml Pituitrolu P. Z. H. III grupa doświadczalna. Liczne ziarenka kwasu askorbinowego nagromadzone śródkomórkowo i pozakomórkowo w części rdzennej, oraz dokoła rozszerzonych zatok krwionośnych. Metoda Giroud i Leblonda. Pow. duże.

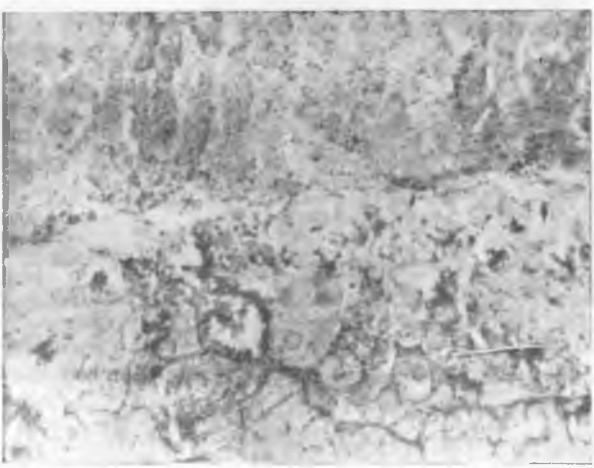
Warstwa pasmowata stała się zatem wyraźnie widoczna, a wielka ilość drobnych ziarenek kwasu askorbinowego rozrzuconych śródkomórkowo i międzykomórkowo nadawała jej wygląd ostro rysującego się zapylonego pasa.

Zanotowaliśmy także wyraźne zwiększenie ilości witaminu C w komórkach istoty rdzennej, przy czym największe nagromadzenie ich wystąpiło w przykorowych komórkach. (Mikrofotografia Nr 3).

Zatoki krwionośne istoty rdzennej szerokie, tak że niejednokrotnie komórki miały wygląd ścieśnionych. W ułożeniu komórek tak warstwy korowej, jak i rdzennej nie zauważono różnic w porównaniu z preparatami kontrolnymi, choć badania nasze przeprowadzone nad zachowaniem się aparatu Golgiego i mitochondrii wskazywały na zahamowanie procesów czynnościowych tak w jednych, jak i w drugich.

IV. grupa doświadczalna

Wstrzyknięcie 2 ml wyciągu tylnego płata przysadki mózgowej spowodowało zatrzymanie się dużej ilości ziarenek kwasu askorbinowego w komórkach warstwy pasmowatej przy równoczesnym zwiększeniu i nagromadzeniu się ich w komórkach części rdzennej nadnerczy. Ziarenka witaminu C były rozrzucone nie tylko po cytoplazmie komórek, ale także wzdłuż ścian rozszerzonych zatok krwionośnych. Te ostatnie ziarenka niejednokrotnie ułożone były bardzo gęsto obok siebie, tak że rysowały ostrą granicę ściany naczynia. (Mikrofotografia Nr 4).

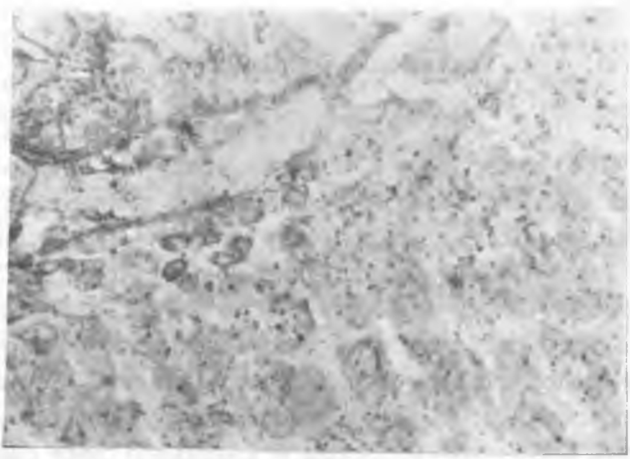


Mikrofotografia Nr 4. Nadnercze myszy. 2,0 ml. Pituitrolu P. Z. H. IV grupa doświadczalna. Ziarenka kwasu askorbinowego rozrzucone po cytoplazmie komórek warstwy pasmowatej i rdzennej, oraz wzdłuż ścian rozszerzonych naczyń krwionośnych. Metoda Giroud i Leblonda. Pow. małe.

Zmian w obrazie histologicznym komórek części rdzennej i korowej nie było, badania natomiast nad umiejscowieniem i fazami czynnościowymi aparatu Golgiego i chondriomu wskazywały na ich hipoplazję i hipofunkcję.

V. grupa doświadczalna

W piątej grupie doświadczalnej znajdowały się zwierzęta, które otrzymały 2,5 ml wyciągu tylnego płata przysadki mózgowej. Preparaty nadnerczy nie wykazywały zmian histologicznych w komórkach, aparat Golgiego i chondriom zaś wskazywały na zahamowanie procesów wydzielniczych.



Mikrofotografia Nr 5. Nadnercze myszy. 2,5 ml. Pituitrolu P. Z. H. V grupa doświadczalna. Nagromadzenie dużej ilości ziarenek w komórkach warstwy rdzennej. Metoda Giroud i Leblonda. Pow. duże.

Rozmieszczenie ziarenek kwasu askorbinowego było bardzo charakterystyczne dla tego okresu doświadczenia. Zauważyliśmy bowiem zanik ziarenek kwasu askorbinowego w części kłębkowej i zwiększenie ich w warstwach pasmowatej, a przede wszystkim w siatkowatej, co zacierało granicę pomiędzy komórkami części korowej i rdzennej.

Ziarenka rozmieszczone były nie tylko śródkomórkowo, ale także i międzykomórkowo, przy czym skupiały się one w większe grudki. (Mikrofotogriofia Nr 5).

Odnosiło się wrażenie, że cała ilość kwasu askorbinowego uległa przesunięciu dośrodkowemu, co mogło odpowiadać ubytkowi tego kwasu z zewnętrznych warstw kory nadnerczy.

VI. grupa doświadczalna

W tej grupie doświadczalnej znalazły się zwierzęta, które otrzymały płyn fizjologiczny w tych samych ilościach i odstępach czasu co myszki doświadczalne z poprzednich grup. Postępując według metody cytochemicznej Giroud i Leblonda przekonaliśmy się, że ilość i rozmieszczenie kwasu askorbinowego w nadnerczach nie przedstawiały żadnych różnic w porównaniu z preparatami kontrolnymi. Nie zauważyliśmy również poszerzenia zatok naczyniowych w części rdzennej nadnerczy.

Omówienie wyników badań

Badania Besessena, Mouriquanda, Harrisa, Stepto i Sayersów wskazywały nie tylko na zmienną ilość i rozmieszczenie kwasu askorbinowego w nadnerczach, ale także i na istnienie współzależności pomiędzy tym kwasem a czynnością kory nadnerczy. Nagromadzenie względnie ubytek witaminu C jest więc prawdopodobnie związany z pracą komórki. Można by więc zatem studiując obrazy rozmieszczenia i ilości tego kwasu wyciągnąć pewne wnioski odnośnie wartości czynnościowych komórek. Porównanie zachowania się aparatu Golgiego i chondriomu z rozmieszczeniem i ilością ziarenek kwasu askorbinowego w komórkach może dać podstawę do odtworzenia cyklu pracy komórek wydzielających.

Jak wykazały nasze poprzednie badania, podawanie myszkom wyciągów tylnego płata przysadki mózgowej w różnych ilościach i odstępach czasu prowadziło do hipoplazji i hipofunkcji aparatu Golgiego i chondriomu w komórkach kory nadnerczy. Podanie Pituitrolu powodowało również zmienność w rozmieszczeniu i ilości kwasu askorbinowego, co wyrażało się nawet wprostproporcjonalnym stosunkiem, albowiem hipoplazja i hipofunkcja aparatu Golgiego i chondriomu odpowiadały zmniejszeniu względnie zanikowi kwasu askorbinowego. Ten wprostproporcjonalny stosunek wskazywał na udział kwasu askorbinowego w przemianach zachodzących w protoplazmie i jej stanie dynamicznym. Można by więc sądzić, że istnieje stosunek kwasu askor-

binowego do aparatu Golgiego i chondriomu nie tylko morfologiczny, ale i fizjologiczny. Na morfologiczny stosunek wskazywały badania Tonuttiego, Michałowskiego oraz Hirscha i Sluitera.

Wnioski

Myszkom wstrzykiwano wyciągi tylnego płata przysadki mózgowej w ilościach 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ml w odstępach 30 minutowych. Kwas askorbinowy wykrywano w nadnerczach wg metody Giroud i Leblonda, stosując również oprócz tego i inne metody histologiczne. Na podstawie naszych obserwacji dochodzimy do następujących wniosków:

1. Wyciągi tylnego płata przysadki mózgowej powodują zmniejszenie, a nawet zanik kwasu askorbinowego w komórkach części korowej nadnerczy, przy równoczesnym nagromadzeniu się jego w istocie rdzennej.

2. Rozmieszczenie i ilość kwasu askorbinowego w części rdzennej nadnerczy w bezpośredniej bliskości rozszerzonych zatok krwionośnych mogło wskazywać na drogę krwionośną usuwania tego kwasu.

3. Wstrzykiwanie myszkom wyciągów tylnego płata przysadki mózgowej powoduje hipoplazję i hipofunkcję aparatu Golgiego i chondriomu, oraz zmniejszenie względnie zanik ziarenek kwasu askorbinowego w komórkach kory nadnerczy. Ten wprostproporcjonalny stosunek może wskazywać na udział kwasu askorbinowego nie tylko w procesach zachodzących w protoplazmie, ale prawdopodobnie i w całym cyklu wydzielniczym komórek.

4. Można sądzić o istnieniu nie tylko morfologicznej, ale także i fizjologicznej wspólnoty pomiędzy witaminem C a strefą czynnościową Golgiego i chondriomu.

PIŚMIENNICTWO

1. Bessessen D. — Amer. Journ. Physiolog. Vol. 63, str. 245—253, 1923.
2. Giroud A i Leblond C. P. — Arch. d. Anat. Microsc. Vol. 31, str. 111—142, 1935.
3. Giroud A. i Leblond C. P. — Bull. d. Hist. Appl. Vol. 12, str. 49—57, 1935.
4. Giroud A. i Leblond C. P. — Nature. Vol. 138, str. 247—248, 1946.
5. Harris L. J. i Ray S. N. — Biochem. Journ. Vol. 27, str. 417—423, 1947.
6. Hirsch G. C. — Form- und Stoffwechsel der Golgi Körper. Protoplasma Monographien. Bd. 18. Berlin. Borntraeger, 1939.
7. Michałowski R. — Warsz. Czasopismo Lek. Rok 13, str. 1—6, 1936.
8. Mouriquand C., Tete H. i Lavaud J. — Cpt. rend. Soc. Biol. Vol. 127, str. 1500—1501, 1938.
9. Sayers G. i Sayers M. A. — Endocrinology. Vol. 40, str. 265—273, 1947.
10. Sayers G., Sayers M. A., Liang T. Y. i Long C. N. H. — Endocrinology. Vol. 38, str. 1—9, 1946.
11. Sluiter J. W. — Proc. Kon. Nederl. Akad. Wetenschap. Amsterdam. Vol. 51, str. 627—633, 1948.
12. Staszyc J. — Annales UMCS. Sectio D. Lublin. Vol. 7, str. 131—153, 1952.
13. Stepto R. C., Pirani C. L., Consolazio C. F. i Bell J. H. — Endocrinology. Vol. 49, str. 755—773, 1951.
14. Szent—Gyorgy A. — Biochem. Journ. Vol. 22, str. 1387—1389, 1928.
15. Tonutti E. — Zeitsch. f. mikr. anat. Forsch. Vol. 42, str. 221—232, 1937.
16. Quick A. J. — Proc. Soc. Exper. Biol. Med. Vol. 30, str. 753—754, 1933.

РЕЗЮМЕ

Автором были деланы белым мышкам подкожные инъекции экстракта из задней дольки гипофиза (Питуитрол P.Z.H. Варшава) в количестве от 0,5 до 2,5 см^3 в 30 минутных промежутках времени. Спустя 30 минут после последней инъекции весь материал подвергался исследованиям. Для обнаружения аскорбиновой кислоты в надпочечниках а тор пользовался методом Жиру и Леблонда, применяя еще и другие гистологические методы. В результате произведенных опытов можно прийти к ниже следующим заключениям:

I. Экстракты задней дольки гипофиза вызывают уменьшение, а даже полное исчезновение аскорбиновой кислоты в клетках коркового вещества надпочечников, при одновременном нагромаждении ее в мозговом веществе.

2. Размещение и количество аскорбиновой кислоты в мозговом веществе надпочечников в непосредственном соседстве расширенных кровеносных синусов может указывать, что эта кислота удаляется посред твом кровеносных сосудов.

3. Впрыскивание белым мышкам экстрактов задней дольки гипофиза вызывает гипоплазию и гипофункцию аппарата Гольджи и хондриома, а равно уменьшение или исчезновение зернышек аскорбиновой кислоты в клетках коркового вещества надпочечников. Это прямо пропорциональное отношение может свидетельствовать об участии аскорбиновой кислоты не только в процессах, протекающих в протоплазме, но, по всей вероятности, также в целом цикле выделительных процессов клеток.

4. Можно предпологать, что между витамином „С” а функциональным полем аппарата Гольджи и хондриома существует не только морфологическое, но и физиологическое единство.

SUMMARY

Albino mice were injected subcutaneously with the posterior pituitary extract (Pituitrol, P. Z. H. Warsaw) in quantities from 0,5 up to 2.5 ccm in 30 min. intervals. The material was collected 30 min. after the last injection. The presence of the ascorbic acid in the adrenals was demonstrated by using the method of Giroud and Leblond, as well as other histological methods. On ground of those investigations the author arrives at the following conclusions:

1. The posterior pituitary extracts produce a decrease, and even disappearance of the ascorbic acid from the cells of the cortical part of the adrenals, and simultaneously its accumulation in the medullary part.

2. In the medullary part of the adrenals the distribution and the amount of the ascorbic acid to be found close to the dilated sinuses pointed to the possibility of its being removed with the stream of blood.

3. Injections of the posterior pituitary extracts given to mice produced hypoplasia and hypofunction of the Golgi apparatus and chondriome, as well as a decrease or disappearance of the ascorbic acid grains from the cells of the cortex of the adrenals. This direct relation seems to confirm the supposition that the ascorbic acid takes part not only in the activities of the cytoplasm, but also probably in the whole secretory cycle of the cells.

4. The existence of a morphological, an even biological community between Vitamine C and the Golgi dynamic area and chondriome can be supposed.

Papier druk. sat. III. kl. 90 g. Format 70 x 100. Ark. druku 12 str.
Annales U. M. C. S. Lublin 1953. Lub. Druk. Prasowa, Lublin, Kościuszki 4, Zam. Nr 4838. 24.III.53.
850 egz. A-4-13343. Data otrzymania manuskryptu 24.III.53. Data ukończenia druku 14.VIII.53.